

Instrucciones de uso BIOSAVE® Detección de ANTÍGENOS



Detección de gérmenes humanopatógenos en suero, líquido cefalorraquídeo o heces humanos mediante AGLUTINACIÓN DE LÁTEX

Duración del test: aprox. 7 min, máx. 25 min (con tratamiento con Pronasa)

PROPÓSITO DEL TEST

El test Biosave® Detección de antígenos es un test rápido para la determinación cualitativa de antígenos en suero, líquido cefalorraquídeo o heces humanos mediante aglutinación de látex. El test de antígenos Biosave® está diseñado para su uso en el diagnóstico in vitro.

PRINCIPIOS DEL TEST

El test se basa en el método de la aglutinación de látex (aglutinación indirecta). Las partículas de látex están impregnadas con anticuerpos (de conejo) contra los respectivos antígenos y se encuentran en una suspensión estable. El reactivo se mezcla con la muestra del paciente en un pocillo de la tarjeta de aglutinación. Si la muestra contiene los antígenos correspondientes, estos reaccionan con los anticuerpos de las partículas de látex y, pasado el tiempo indicado, forman aglomeraciones visibles a simple vista. De no contener antígenos específicos contra el antígeno, no se produce aglutinación alguna y la mezcla queda turbia.

Para identificar reacciones inespecíficas (por ej. debidas a factores reumatoideos) pueden realizarse pruebas paralelas con reactivos de control recubiertos con inmunoglobulina de conejo. Normalmente, estas reacciones están causadas por proteínas que pueden destruirse usando proteinasa Pronasa. Por lo tanto, si los antígenos objeto del test no son proteínas, puede aumentarse la especificidad de la prueba tratando la muestra con Pronasa antes de empezar. Otro método que puede aplicarse en cualquier ocasión para eliminar factores reumatoideos indeseados es tratar la muestra con nuestro Biosorb® (contra inmunoglobulina humana).

LÍMITES DE ESTE MÉTODO

Los test de aglutinación de látex Biosave® permiten la determinación cualitativa de los antígenos correspondientes. Como en todos los test de este tipo, el hecho de obtener un resultado negativo no descarta que exista la infección en cuestión. Los resultados de la prueba no deberían utilizarse como única vía para valorar el cuadro clínico de un paciente, sino que deben interpretarse teniendo en cuenta el contexto general (cuadro sintomático, momento de extracción de la muestra, otros valores de laboratorio, etc.) y junto con otros datos del paciente disponibles. En caso de obtener un resultado negativo o indefinible debería repetirse el test con una muestra nueva pasados entre 10 y 14 días.

REACTIVOS BIOSAVE®

Reactivo de látex para la detección de antígenos: suspensión estable de partículas de látex impregnadas con anticuerpos de conejos contra el antígeno correspondiente; listo para usar, en frasco cuentagotas.

Reactivo de látex de control: suspensión estable de partículas de látex impregnadas con globulina de conejo normal; listo para usar, en frasco cuentagotas.

Control de anticuerpos: contra suero de conejo (cabra); liofilizado.

Control positivo: extracto de antígeno estabilizado; listo para usar, en frasco cuentagotas.

Control negativo: suero humano estable sin anticuerpos aglutinadores; liofilizado.

Pronasa: para tratar las muestras de suero; liofilizada.

PBS: para la dilución de muestras; listo para usar.

Tarjetas de un solo uso.

Instrucciones de uso

MATERIAL ADICIONAL NECESARIO

Pipetas para sembrar las muestras

Palillos de plástico

(Agitador)

Cronómetro

(Lámpara fluorescente)

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

El kit y sus componentes deben almacenarse a la temperatura indicada en la etiqueta correspondiente. Los reactivos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta siempre que estén **sin abrir** y se sigan las recomendaciones de almacenamiento indicadas. No deben emplearse transcurrida la fecha de caducidad.

Una vez abiertos, deben cerrarse correctamente y almacenarse a la temperatura indicada en la etiqueta. Utilícense lo antes posible. La fecha de caducidad de un lote no es válida una vez abierto el reactivo.

Advertencia: no congelar nunca los reactivos de látex, se producen grumos irreversibles. Una vez reconstituidos los reactivos liofilizados, las disoluciones son estables durante 1 mes a una temperatura de entre 5 y 10 °C. Deje de utilizar las disoluciones si observa que están turbias o sucias. Las tarjetas de un solo uso pueden almacenarse a temperatura ambiente y no tienen fecha de caducidad (la fecha indicada en la etiqueta de estas tarjetas es solo para efectos de organización del almacén).

INDICACIONES DE SEGURIDAD

1. Los controles positivos contienen extracto del antígeno, por lo que son potencialmente infecciosos. Manéjelos con el cuidado necesario.
2. Todos los sueros humanos utilizados para los productos de sueros humanos (controles) son potencialmente infecciosos. Manéjelos con el cuidado necesario.
3. Todos los reactivos líquidos (reactivos de látex, PBS, etc.) contienen azida sódica o tiomersal como conservante según se indique en la etiqueta. Ambos son tóxicos. Evite el contacto con los ojos y la piel, respirarlos o ingerirlos. Si el producto entra en contacto con la piel, aclarar con abundante agua. Los reactivos que contengan azida sódica no deben entrar en contacto con objetos de plomo o cobre ya que pueden formar azidas metálicas explosivas.
4. Se deben cumplir estrictamente todas las disposiciones de seguridad correspondientes a materiales con riesgo biológico, tóxicos e irritantes establecidas por asociaciones profesionales y por el propio laboratorio (véanse rótulos, boletín informativo del laboratorio, instrucciones de seguridad y el reglamento laboral aprobado para la certificación de la empresa).
5. Se deben tener en cuenta en todo momento las normas actuales sobre buenas prácticas de laboratorio (Good Laboratory Practice, GLP).
6. Tras la realización de los tests deben eliminarse los reactivos y sueros empleados según las disposiciones legales correspondientes.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El test puede utilizarse con suero o con líquido cefalorraquídeo. Ambos tipos de muestras son estables aproximadamente durante una semana a una temperatura de entre 5 y 10 °C. Congélelas a -20 °C si desea volver a utilizar las muestras o almacenarlas durante más tiempo.

Suero:

Para aumentar la especificidad del test se recomienda tratar la muestra con Pronasa antes de proceder. Las muestras no deben contener anticoagulante, podría estropear la prueba.

1. Mezclar 200 µl de suero con 200 µl de solución de Pronasa y cerrar bien el recipiente.

2. Incubar la mezcla de suero y Pronasa a 56 °C durante 15 minutos.

3. A continuación, cocer inmediatamente la mezcla durante 5 minutos para finalizar la reacción enzimática.

4. Esperar a que la mezcla de suero y Pronasa haya recuperado la temperatura ambiente para utilizarla en el test. Téngase en cuenta la dilución previa 1:2 de la Pronasa a la hora de calcular el título.

Bios®, Biosite®, Biognost®, Biolisa®, Biosave®, Biosorb®, Biomedix®, Bionostix®, Biotik®, Biochip®, Bioservice®, Biotainer®, Biodata®, Diagnos® y Recipe® son marcas registradas de Bios® GmbH, Alemania.

Los productos identificados en el presente texto con el símbolo ® son propiedad de la empresa Bios GmbH.

Las instrucciones de uso de la empresa Bios Labordiagnostik GmbH son propiedad intelectual de la empresa y deben utilizarse según sus especificaciones.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 Múnich, Alemania.

Tel./Fax: +49 (0) 89/898895-41/40, correo electrónico: bios@bios-world.com, Biosite® www.bios-world.com

Líquido cefalorraquídeo:

El líquido cefalorraquídeo debe incubarse 5 minutos en agua hirviendo para inactivarlo y reducir en lo posible las reacciones inespecíficas.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los reactivos liofilizados se reconstituyen con agua destilada o desmineralizada en las cantidades indicadas en la etiqueta. No caliente o agite los reactivos para acelerar la reconstitución.

El **control negativo** debe inactivarse a 56 °C durante 30 minutos antes de cada uso para evitar que aparezca una reacción falso positivo a causa de los agregados que se forman durante el almacenamiento.

CONTROL DE CALIDAD Y BÚSQUEDA DE ERRORES

Preparar los controles positivo y negativo con el reactivo de látex para detección de antígenos. Paralelamente, realizar el control positivo, el control negativo y el control de anticuerpos con el reactivo de látex de control; los controles positivo y negativo no deben mostrar aglutinación y el control de anticuerpos debe ser positivo.

En caso de no obtener los resultados esperados, el test no es válido y debe repetirse. No utilice un reactivo de látex si está apelmazado (puede estar caducado, seco o congelado).

REALIZACIÓN DEL TEST

Los componentes pueden usarse en cuanto estén a temperatura ambiente (aprox. 5 minutos). Evite dejarlos a la luz del sol o cerca de calefactores. Los reactivos deben emplearse sin diluir. Agítelos con cuidado antes de usar.

Debe realizarse un control cada día del test. Atención: no es necesario realizar los controles en cada tarjeta de cada muestra de paciente. En la tarjeta aparecen señalados los campos destinados a las muestras y los distintos controles. Para los controles deben prepararse 2 campos para el control positivo, 2 para el control negativo y 1 para el control de anticuerpos. Los controles positivo y negativo se realizan con el reactivo de látex para detección de antígenos y con el reactivo de látex de control, mientras que el control de anticuerpos solo se realiza con el reactivo de látex de control. Para las muestras hacen falta 2 campos para cada una: uno para el reactivo de látex para detección de antígenos y otro para el reactivo de látex de control.

1. Dejar caer una gota de control en cada uno de los dos campos del control positivo. Para ello, sostener el cuentagotas en posición horizontal para que el tamaño de la gota sea correcto.

2. Colocar 25 µl del control de anticuerpos y del control negativo en cada uno de los campos.

3. Colocar 25 µl de muestra del paciente en cada uno de los campos previstos a este fin.

4. Dejar caer una gota de reactivo de látex para detección de antígenos en uno de los dos campos del control positivo, el control negativo y la muestra.

5. Dejar caer una gota de reactivo de látex de control en el segundo campo del control positivo, el control negativo, la muestra y el control de anticuerpos.

6. Mezclar bien cada campo con un palillo de plástico. Utilizar un palillo distinto para cada muestra y cada control.

7. Mover en círculos la tarjeta manualmente o con un agitador (125 ± 25 rpm) aproximadamente durante 5 minutos.

8. Leer los resultados pasados unos 5 minutos. Es importante realizar la lectura inmediatamente para evitar que la mezcla se seque o aposente y aparezcan resultados falsos. Se recomienda efectuar la lectura directamente bajo una lámpara fluorescente y clasificar el resultado en una escala de negativo a +4.

Una vez usados, guardar inmediatamente el reactivo de látex y los controles en el frigorífico.

EVALUACIÓN E INTERPRETACIÓN**Positivo:**

La aparición de una aglutinación en el control positivo o en la muestra del paciente dentro del plazo indicado indica que el control o la muestra contienen el antígeno contra los anticuerpos de las partículas de látex. Así pues, el resultado del test es positivo.

El control positivo está diseñado para que se observe claramente la aglutinación en el tiempo indicado.

Negativo:

El resultado del test es negativo cuando la suspensión del control o de la muestra del paciente sigue turbia después del período de incubación indicado.

BIBLIOGRAFÍA

Singer J.M., Plotz C.M.: The Latex Fixation Test. I. Application to the Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Am. J. Med. 21, 1956, 888-892